

==== АКВАКУЛЬТУРА И ИСКУССТВЕННОЕ ВОСПРОИЗВОДСТВО ====

УДК 639.371.2:639.3.043.2

## **ОБ ОПАСНОСТИ МИКРОБНОГО ПОРАЖЕНИЯ КОМБИКОРМОВ, ИСПОЛЬЗУЕМЫХ В АКВАКУЛЬТУРЕ**

© 2007 г. И.В. Бурлаченко

*Всероссийский научно-исследовательский институт  
рыбного хозяйства и океанографии, Москва 107140*

Поступила в редакцию 19.12.2006 г.

Окончательный вариант получен 21.05.2007 г.

Исследована реакция организма стерляди на заражение комбикормов 6 видами микроорганизмов. Выявлена опасность микробного поражения кормов в связи со скрытым характером его воздействия. При отсутствии выраженных внешних признаков микробная контаминация вызывает структурные и функциональные нарушения органов, отвечающих за детоксикацию и удаление из организма ядов (печень, почки, кишечник), их заражение, а также разнонаправленные нарушения в обмене веществ, что сопровождается гибелью молоди в неблагоприятных условиях. Реакция организма рыб на действие метаболитов микроорганизмов сходна с реакцией гомойотермных животных.

### **ВВЕДЕНИЕ**

В современной аквакультуре производится около половины мировой продукции водных биоресурсов. Актуальные задачи науки в этой области значительно меньше, чем ранее, связаны с созданием технологий культивирования, которые, в основном, уже разработаны. На первый план выходит выявление узких мест, изучение механизмов, сдерживающих реализацию продуктивного потенциала объектов и разработка биологически оправданных предложений по решению имеющихся проблем (Карпевич, 1985; Душкина, 1998).

Адекватное кормление является одной из фундаментальных основ культивирования любых объектов, позволяющее в максимально короткие сроки реализовать их продуктивный потенциал. Благодаря успехам науки о питании рыб разработаны биологически обоснованные комбикорма, состав которых, на основе имеющихся современных научных данных в основном соответствует пищевым потребностям рыб и задачам культивирования (Щербина и др., 1985; Гамыгин, 1987; Гамыгин и др., 1990; Остроумова, 2001; Гамыгин и др., 2004; Щербина, Гамыгин, 2006).

Известно, что комбикорма представляют собой набор компонентов, которые, как правило, не используются животными в столь концентрированной форме в естественной среде обитания. Следует отметить, что большинство компонентов, особенно растительного происхождения, содержат видоспецифичные вещества, зачастую являющиеся токсичными для потребляющих их животных. Их отрицательное влияние на организм может

усугубляться присутствием контаминантов – комплекса чужеродных веществ, способных оказывать отрицательное влияние на общее состояние здоровья и продуктивность объектов выращивания (Тутельян, 1985). Эти факторы, в аспекте их накопления в пищевых цепях, представляют непосредственную угрозу не только для животных, но, в дальнейшем, и для людей (Щербина, 1984; Тутельян, 1985; Шатерников, 1985; Чернышов, Панин, 2000).

В животноводстве присутствие контаминантов в кормах регламентируется показателями безопасности, которые устанавливаются в соответствии с особенностями влияния этих веществ на организм. В связи со сравнительно недавней историей индустриального культивирования рыб, многие показатели безопасности комбикормов, в силу своей недостаточной изученности, приняты по аналогии с теплокровными животными, без учета биологических особенностей рыб и специфики их выращивания (ГОСТ Р 51899-2002). В то же время активность естественного иммунитета рыб, намного ниже, чем у теплокровных животных (Лукьяненко, 1971, 1989; Кондратьева, Киташова, 2002).

Серьезную опасность представляют контаминанты, присутствие которых в комбикормах для рыб обусловлено особенностями их пищевых потребностей – высоким содержанием белка и липидов. К ним относятся продукты перекисного окисления жиров и жизнедеятельности микроорганизмов – грибов и бактерий. Вопросы воздействия на рыб продуктов окисления липидов и продуцируемых грибами микотоксинов изучались достаточно подробно (Абрамова и др., 1981; Шабалина, 1974; Галаш, 1988; Остроумова, 2001; Головина, 2003). В то же время микробное заражение кормов для рыб остается в ряду наименее изученных. При этом имеются сведения, что микробная контаминация кормов вызывает изменения в их химическом составе, снижает пищевую ценность, приводит к накоплению токсичных продуктов жизнедеятельности микроорганизмов и нарушает нормальную микрофлору пищеварительного тракта (Чернышов, Панин, 2000).

С позиций современной парадигмы питания (Уголев, 1985, 1991; Уголев, Кузьмина, 1993; Кузьмина, 2005) нормальная микрофлора пищеварительного тракта, являясь симбионтом, участвует не только в процессах расщепления питательных веществ корма, синтезе жизненно важных соединений, но и выполняет защитную функцию. У человека и теплокровных животных негативные изменения в составе микробиоценоза кишечника приводят к нарушениям переваривания и усвоения пищи и целостности его защитных барьеров. Это способствует снижению резистентности организма и сопровождается проникновением бактерий из пищеварительного тракта во внутренние органы, сокращением их функциональной активности, ухудшением деятельности иммунной системы. В литературе (Жезмер и др., 1988; Жезмер, Ляшенко, 1991; Войнова, 1991) приводятся отдельные сведения об аналогичных явлениях, обнаруженных у рыб под действием микроорганизмов кормов, не входящих в

перечень нормируемых показателей безопасности (согласно ГОСТ нормируются только патогенная кишечная палочка, грибы и общий уровень обсемененности). Однако, особенности комплексного влияния на рыб наиболее значимых групп микроорганизмов, поражающих комбикорма, знание которых необходимо для понимания их специфического воздействия на состояние здоровья и реализацию продуктивного потенциала рыб, не были изучены.

Этот вопрос представлял интерес с позиций изучения реакции организма рыб на микробное заражение комбикормов и обоснованности действующих нормативов безопасности.

В рамках этих исследований на предварительном этапе были выявлены наиболее типичные для рыбных комбикормов группы микроорганизмов – бактерии р. *Bacillus*, стафилококки, энтеробактерии, а также плесневые и дрожжеподобные грибы (Бурлаченко и др., 2002а, 2002б). Все они имеют широкое распространение, высокую ферментативную активность, позволяющую расщеплять органические субстраты. Большинство способно к токсинообразованию и обладает факторами патогенности, а также существуют в сапрофитной и паразитической формах. Многие из них, с одной стороны, являются представителями нормальной микрофлоры рыб, с другой – будучи достаточно активными, при наступлении определенных условий (ослаблении рыб, стрессе, органическом загрязнении среды и т.д.), могут проявлять патогенные свойства. Эти свойства, на фоне способности микроорганизмов длительное время сохраняться во внутренних органах и на поверхности тела рыб (Ларцева, 2003), представляют весьма существенную угрозу и для потребителей рыбной продукции.

Микробиологические исследования более 100 образцов рыбных комбикормов показали, что реальный средний фоновый уровень их обсемененности ( $10^5$ - $10^6$  КОЕ/г) на порядок выше, по сравнению с комбикормами для сельскохозяйственных животных, птиц и нормативных показателей кормов для рыб (Чернышов, Панин, 2000; Соколов, 2002; Бурлаченко, 2004). Принимая во внимание, что исследованные образцы комбикормов были получены непосредственно из хозяйств и комбикормовых заводов, можно говорить о неполном соответствии изготавливаемых или используемых в хозяйствах кормов установленным нормативам безопасности.

В ходе последующих экспериментальных работ исследовали реакцию молоди осетровых рыб на микробное заражение комбикормов типичными представителями преобладающих групп микроорганизмов. Бактерии р. *Bacillus* были представлены картофельной палочкой (*Bacillus mesentericus*), энтеробактерии – кишечной палочкой (*Escherichia coli*), протеем (*Proteus vulgaris*) и цитробактером (*Citrobacter* sp.), группа стафилококков – эпидермальным стафилококком (*Staphylococcus epidermidis*). Было установлено, что длительное время (1,5-2 мес.) реакция рыб может иметь скрытую форму.

Однако при этом отмечают патологические изменения во внутренних органах и сдвиги в процессах метаболизма (Бурлаченко и др., 2002а; Бурлаченко, 2003, 2006, 2007, в печати).

В аспекте полученных данных целью настоящей работы являлось дополнение имеющейся картины результатами исследований влияния на рыб заражения комбикормов еще одной группой микроорганизмов – дрожжеподобными грибами и подготовка предложений к нормированию безопасности комбикормов по микробиологическим показателям.

### МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Все экспериментальные работы были выполнены по единой схеме на молоди стерляди *Acipenser ruthenus*. В опытах использовали молодь массой от 7 до 30 г. Выбор этой возрастной группы был обусловлен высокой чувствительностью быстро растущего организма к повреждающим агентам вследствие незаконченного формирования защитных функций. Кроме того, учитывалась возможность более быстрого, по сравнению со взрослыми рыбами, получения результатов.

Исследовали особенности реакции молоди стерляди на заражение комбикормов представителями выявленных ранее наиболее типичных групп микроорганизмов. Для этого проводили экспериментальное заражение комбикормов. В качестве заражающих агентов использовали культуры, выделенные непосредственно из комбикормов (*Bac. mesentericus*, *E. coli*, *Citrobacter* sp.), а также эталонные штаммы микроорганизмов родов *Proteus*, *Staphylococcus*, *Penicillium*, полученные из ГНИИ стандартизации и контроля медицинских биологических препаратов им. Л.Н. Тарасевича. Предполагаемую степень заражения выбирали, исходя из данных об уровнях обсемененности кормов (более  $10^5$  КОЕ/г), вызывавших заболевания рыб и указанных в исследованиях В.Ю. Жезмер и соавторов (1988, 1991), Н.В. Войновой (1991), Л.И. Бычковой с соавторами (1995), а также собственных данных (Бурлаченко и др., 2002а). Максимальная концентрация микроорганизмов составляла –  $10^9$  КОЕ/г. Моделируя реальные условия рыбоводных хозяйств, сверхвысокие концентрации не применяли. Заражение проводили в специализированных микробиологических лабораториях. Процедура заражения была подробно описана в предыдущих работах (Бурлаченко и др., 2002а). В описываемой серии опытов фактическая обсемененность партий корма после их заражения *Candida albicans* составила  $3,1 \times 10^4$ ;  $1,8 \times 10^6$  и  $4,3 \times 10^8$  КОЕ/г.

Эксперименты проводили по схеме «питание-голодание» в аквариальной ВНИРО в период 1999- 2004 гг. О степени воздействия токсических факторов на рыб судили по результатам клинко-морфологического анализа состояния и обсемененности микроорганизмами печени, почек, кишечника. Оценку вели на основании визуально выявляемых изменений цвета, размеров и консистенции

органов, характеризующих норму или степень развития патологического процесса. При этом использовали критерии нормы и патологии органов при различных заболеваниях, приводимых в работах по ихтиопатологии (Щербина, 1960; Мусселиус, 1983; Головина, 2003).

О действии различных факторов на обмен веществ судили по изменениям массы и химического состава тела рыб, в соответствии со способом М.А. Щербины (1983). Для чего рассчитывали показатель накопления при питании или утилизации при голодании веществ и энергии в различные периоды экспериментов по следующей формуле:

$$N = [(M_1 \times P_1) - (M_0 \times P_0)] / M_0,$$

где  $N$  – накопление или потери веществ и энергии после питания или голодания в г или ккал на 100 г первоначальной массы рыб;  $M_0$ ,  $M_1$  и  $P_0$ ,  $P_1$  – масса и содержание веществ или энергии в теле рыб в начале и по окончании периода питания или голодания, г, % и ккал/100 г. Эти показатели являются интегральным отражением накопления или потерь массы и изменений в обмене веществ у рыб за период опытов.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Дрожжеподобные грибы, наряду с плесневыми, составляют 21% от наиболее типичных микроорганизмов рыбных кормов. У рыб в естественных условиях обитания дрожжи присутствуют на поверхности кожи, жабрах, реже в содержимом пищеварительного тракта. В условиях аквакультуры видовой состав дрожжей у рыб тесно коррелирует с их составом в воде и корме, при этом в содержимом кишечника дрожжи более многочисленны, чем в воде (Квасников и др., 1981).

Имеются сведения и о негативном воздействии дрожжей на рыб в условиях аквакультуры. В частности, при их высоком содержании в кормах, у карпов наблюдались сбои в работе ферментных систем и увеличение содержания в мышцах и крови рыб нуклеиновых и мочевой кислот в количествах, опасных для употребления такой рыбы в пищу (Турецкий и др., 1989). В своих исследованиях Л.С. Тихонова с соавторами (1987), а также Н.В. Войнова (1991) приводят сведения о патогенности дрожжей для карпов различного возраста.

В условиях наших опытов почти 2-х месячное питание молоди стерляди (начальной массой 7 г) комбикормами с различной степенью заражения дрожжами не привело к статистически значимым различиям в конечной массе рыб. По окончании периода кормления она колебалась в пределах 12,5-14,5 г. Высокая выживаемость – более 90%, и незначительное снижение темпа роста свидетельствовали об отсутствии видимого эффекта. В то же время клинико-морфологический анализ внутренних органов позволил выявить различные нарушения в структуре, цвете печени и почек, что являлось отражением различных

этапов течения воспалительных процессов. Известно, что на начальных этапах для воспаления характерно усиление циркуляции крови, повреждения стенок сосудов, отеки. Затем, вследствие недостаточного кровоснабжения, наблюдается развитие некротических процессов, идет замещение части собственных тканей органов соединительной или жировой тканью, что сопровождается характерными изменениями их цвета и структуры (Коляков, 1952; Журавель и др., 1968; Schaperclaus, 1979; Евдокимова, 2003).

Было также отмечено истончение и повреждение стенок кишечника. Согласно литературным данным (Уголев, 1991; Кузьмина, 1995) это приводит к сокращению поверхности слизистой и, как следствие, к ухудшению процессов переваривания и усвоения пищи. Кроме того, повреждения слизистой увеличивают ее проницаемость для микрофлоры кишечника, которая обсеменяет внутренние органы. Именно это и наблюдалось у молоди, питавшейся кормами, зараженными дрожжеподобными грибами. В полтора-два раза возросло количество рыб с высокой степенью бактериального заражения внутренних органов, в том числе и *Candida albicans*. Дрожжеподобные грибы были обнаружены и в мышцах. Описанные явления при отсутствии выраженных внешних проявлений, свидетельствовали об общем ослаблении организма рыб, имевшего скрытую форму.

Следует подчеркнуть, что в случае заражения кормов *Candida albicans*, также как и в описанных ранее опытах, регистрируемые у молоди осетровых рыб проявления воспалительных процессов в ответ на действие микроорганизмов, во многом сходны с их течением у высших позвоночных животных (Журавель и др., 1968; Шатерников, 1985; Чернышов, Панин, 2000). Это является свидетельством общих закономерностей в реакциях пойкилотермных и гомойотермных животных на повреждающее действие бактериального заражения.

Необходимо отметить, что наряду с выявленным сходством в течении воспалительных процессов в ответ на микробное заражение, степень бактериального поражения внутренних органов и мышц, аналогичная наблюдавшейся в условиях наших экспериментов у молоди осетровых рыб, является смертельной для теплокровных животных (Коляков, 1957; Журавель и др., 1968). Однако в подобной ситуации рыбы продолжают жить и расти, хотя и плохо. При этом они служат резервантами патогенной микрофлоры, что представляет реальную опасность для потребителей рыбной продукции. Подтверждением данного факта может служить статистическая информация о более высокой, чем для мяса и птицы, частоте микробных заболеваний человека, вызываемых рыбами (Liston, 1990).

Воздействие зараженных дрожжами комбикормов нашло свое отражение и в обменных процессах у рыб. Расчеты накопления и утилизации массы, пластических веществ и энергии в процессе роста и последующего голодания (табл. 1) позволили установить, что заражение кормов дрожжами привело к

снижению накопления массы, ее обезвоживанию (в пределах 13-42%) и угнетению синтеза белка на 16-43%. Причем степень дегидратации и торможения синтеза белка находилась в обратной зависимости от уровня заражения корма. В липидном обмене (за исключением варианта  $8,3 \times 10^6$ ) наблюдалось резкое усиление накопления жира – почти в 1,5-2 раза. Накопление минеральных элементов в значительной степени (от 10 до 32%) угнеталось.

**Таблица 1.** Накопление массы, веществ и энергии в теле молоди стерляди после питания комбикормами, зараженными дрожжеподобными грибами, их утилизация при голодании; выживаемость рыб.

**Table 1.** Accumulation of weight, substances and energy in the young sterlets' organisms after feeding of feeds contaminated by yeast-like fungi, utilization during starvation and survival rate.

Варианты заражения, КОЕ/г	Масса	Вода	Сухое вещество	Сырой протеин	Сырой жир	Минеральн. в-ва	Энергия, ккал/100 г	Выживаемость, %
<i>НАКОПЛЕНИЕ, г/100 г массы до питания</i>								
Контроль	92,0	74,1	17,9	11,4	0,9	3,1	91	83
$3,1 \times 10^4$	54,4	43,1	11,3	6,4	0,9	2,1	65	93
$1,8 \times 10^6$	72,3	55,7	16,6	8,7	3,1	2,9	102	92
$4,3 \times 10^8$	82,0	64,1	17,9	9,4	2,6	2,7	103	96
<i>УТИЛИЗАЦИЯ, г/100 г массы до голодания</i>								
Контроль	27,8	19,7	8,1	5,7	1,6	0,1	52	80
$3,1 \times 10^4$	35,2	25,0	10,2	6,4	1,7	1,0	57	33
$1,8 \times 10^6$	38,1	26,8	11,3	6,4	2,8	1,1	67	53
$4,3 \times 10^8$	33,2	23,0	10,2	5,9	2,5	0,7	69	40

Негативная направленность этих изменений четко проявилась при голодании. Были отмечены более значимые (на 19-35%), чем в контрольном варианте, потери массы, дальнейшее обезвоживание организма рыб (до 40% против контроля) и большее участие в поддерживающем обмене белка (вариант с минимальным заражением).

Жир, в избытке накопленный молодь при питании, не смог полностью обеспечить потребность в энергии на поддерживающий обмен, что подтвердилось существенной гибелью рыб и свидетельствовало о недостаточной полноценности этих накоплений. За весь период опытов описанные патологические изменения сопровождались значительными (до 37%) потерями массы и высокой (до 67%) гибелью голодавших рыб.

Полученные результаты позволили расширить и подтвердить уже имеющиеся данные о влиянии заражения кормов микроорганизмами на молодь стерляди (Бурлаченко, 2007, в печати). Для их обобщения ниже приводятся индивидуальные характеристики особенностей влияния на молодь стерляди других групп микроорганизмов. Для удобства проведения сопоставительного анализа,

полученные ранее для каждого из них значения были пересчитаны в относительные единицы и приведены в % к аналогичным величинам контрольных вариантов.

Было установлено, что негативное воздействие на молодь стерляди заражения комбикормов кишечной палочкой (*E. coli*) находится в прямой зависимости от степени заражения корма и усиливается по мере ее возрастания от  $2 \times 10^6$  до  $6,6 \times 10^9$  КОЕ/г. Видимые признаки отрицательного влияния на рыб проявляются в последовательном снижении темпа роста, развитии патологий печени, почек и кишечника у 50% молоди уже при начальном уровне обсемененности корма. При максимальной степени заражения корма внутренние органы поражаются у 80-100% рыб. Влияние на обмен веществ выражается в снижении накопления воды на 10-37%, угнетении синтеза белка на 20-42%, жиров – на 60-75%, а также массы – на 40%, существенном сокращении обеспеченности организма энергией, в связи с ее преимущественном использовании для нейтрализации токсического воздействия. В ходе голодания рыб по мере увеличения заражения корма в поддерживающем обмене в два-три раза возрастает роль белка и до трех раз снижается участие жира. Возрастающие (в 1,4 раза) потери энергии обеспечиваются в основном за счет утилизации белка. При максимальной степени заражения корма, описанные изменения приводят к гибели 40% рыб.

При заражении комбикормов протеем (*Pr. vulgaris*) видимые признаки негативного воздействия выразились в снижении темпа роста (на 25%) и выживаемости (на 58%) при максимальном уровне заражения корма –  $1 \times 10^8$  КОЕ/г. Минимальный уровень заражения корма вызывает обратимые изменения в печени, сопровождаемые высокой степенью ее бактериального заражения более, чем у 80% рыб, необратимые патологии почек (у 50%) нарушения секреции слизи в кишечнике у половины рыб, анемию. В процессах обмена веществ у питающихся рыб происходит торможение синтеза белка и жира соответственно на 30 и 50%.

Влияние заражения кормов цитробактером (*Citrobacter* sp.) имело скрытую форму. Его видимое проявление было зарегистрировано у молоди стерляди при обсеменении корма  $1,3 \times 10^7$  КОЕ/г. Оно выразилось в снижении темпа роста рыб на 10% при отсутствии смертности, независимо от степени заражения корма. Изменения во внутренних органах появились при обсеменении корма  $4,8 \times 10^5$  КОЕ/г, и имели обратимый характер; в наибольшей степени страдали почки у 70-100% рыб. Уровень заражения  $1,3 \times 10^7$  вызвал воспалительные процессы в кишечнике у 50% рыб. В обмене веществ произошло угнетение синтеза белка (на 16-20%) и жира (на 5-36%) и усилилось накопление воды на 14-29%. В поддерживающем обмене при голодании отмечены увеличенные траты белков и жира. Подобная диспропорция, сопровождалась снижением выживаемости до 50%.



Влияние стафилококков (*St. epidermidis*) также было скрытым и не отразилось на темпе роста молоди стерляди и ее выживаемости. Однако, изменения во внутренних органах – в печени и почках – у половины рыб, в кишечниках у всей молоди – имели место уже при минимальном уровне заражения корма –  $2 \times 10^4$  КОЕ/г. Во внутренних органах и кишечнике регистрировали патогенные формы микроорганизмов. При усилении заражения корма количество молоди с патологиями возросло. В процессе обмена веществ было отмечено небольшое сокращение синтеза белка (на 1-8%) и значительное (до 59%) – жира при резком возрастании уровня накопления минеральных веществ (на 35-47%) и воды (на 17-33%). Затраты энергии на нейтрализацию негативного действия бактериального заражения увеличились от 3 до 23%. Изменения в процессах биосинтеза рыб находились в прямой зависимости от степени заражения корма стафилококками. В поддерживающем обмене, специфика действия стафилококков выражается в резком увеличении потерь массы и ограничении утилизации жира. Изменения в состоянии внутренних органов и обмене веществ при питании и голодании сопровождались последовательным, по мере возрастания степени заражения корма, снижении выживаемости молоди стерляди за весь период экспериментов.

Реакция молоди стерляди на накопление картофельной палочки (*Bac. mesentericus*) и ее метаболитов в кормах также имела скрытый характер при 100% выживаемости и отсутствии торможения роста. Видимые изменения в паренхиматозных органах (в печени у половины, в почках у всех рыб), начались при уровне заражения кормов картофельной палочкой –  $2,2 \times 10^5$  КОЕ/г. Состояние слизистой оболочки кишечника не изменилось, однако, при уровне заражения корма  $2,8 \times 10^7$ , у половины молоди было нарушено отделение слизи. Существенного влияния на микробиоценоз кишечника картофельная палочка не оказала. Изменения внутренних органов имели обратимый характер. В обмене веществ в процессе роста рыб отмечена гидратация тканей, усилившаяся по мере возрастания степени заражения корма на 4-25%, и обнаружено угнетение синтеза белка до 12%, жира – на 4-16%.

Таблица 2. Видимые признаки негативного влияния на молодь стерляди заражения комбикормов микроорганизмами (уровень заражения, КОЕ/г).

Table 2. Obvious sings of negative influence of feeds' contamination on young sterlets (level of contamination, CFU per 1g).

Группы микроорганизмов	Диапазон исследованных уровней заражения	Видимые признаки			
		выживаемость		темп роста	состояние внутренних органов
		при питании	при голодании		
<i>E. coli</i>	$2,0 \times 10^6 - 6,5 \times 10^9$	$10^9$	$10^7$	$10^7$	$10^6$
<i>Pr. vulgaris</i>	$6,0 \times 10^4 - 1,0 \times 10^8$	$10^8$	$10^4$	$10^4$	$10^4$
<i>Citrobacter</i> sp.	$6,6 \times 10^6 - 1,3 \times 10^7$	-	$10^6$	$10^7$	$10^6$
<i>Bac. mesentericus</i>	$2,2 \times 10^5 - 2,8 \times 10^7$	-	$10^6$	-	$10^5$
<i>St. epidermidis</i>	$2,0 \times 10^4 - 1,2 \times 10^8$	-	$10^8$	-	$10^4$
<i>Candida albicans</i>	$3,1 \times 10^4 - 4,3 \times 10^8$	-	$10^4$	$10^4$	$10^4$

В таблице 2 приведены обобщенные сведения об уровне заражения кормов, при которых были отмечены видимые изменения у молоди.

Как видно из таблицы, в большинстве случаев выживаемость и темп роста молоди не отражают реальную картину воздействия зараженных кормов, поскольку изменения во внутренних органах свидетельствовали о развитии патологических процессов. При обследовании внутренних органов было выявлено, что токсическое действие микроорганизмов и их метаболитов проявляется, как правило, при минимальной, из исследованных, степеней заражения кормов.

В таблице 3 приведены обобщенные данные о воздействии микроорганизмов кормов на отдельные стороны метаболизма.

**Таблица 3.** Накопление массы, веществ и энергии молодью стерляди при питании комбикормами, зараженными микроорганизмами (% к контролю).

**Table 3.** Accumulation of weight, substances and energy by young sterlets during feeding of contaminated feeds (% of control).

Группы микроорганизмов	Масса	Вода	Сырой протеин	Сырой жир	Энергия
<i>E. coli</i>	60-87	63-90	58-80	25-41	46-59
<i>Pr. vulgaris</i>	62-88	63-87	69-93	50-209	68-86
<i>Citrobacter sp.</i>	106-120	114-129	80-101	64-95	76-98
<i>Bac. mesentericus</i>	94-120	96-125	88-100	84-96	85-102
<i>St. epidermidis</i>	110-126	117-133	92-99	37-41	74-102
<i>Candida albicans</i>	59-89	58-87	57-84	56-194	103-130

Анализируя данные таблицы, можно говорить о выраженном влиянии со стороны микроорганизмов комбикормов на водный, белковый и липидный обмен. Кроме того, значительно снижается обеспеченность рыб энергией за счет ее использования для нейтрализации токсического действия различных микроорганизмов и их метаболитов. При этом кишечная палочка, протей, дрожжеподобные и плесневые грибы вызывают обезвоживание организма молоди в пределах 13-42%, стафилококк, цитробактер и картофельная палочка – обводнение на 14-29%, в сходном, для различных уровней заражения, диапазоне.

Все исследованные микроорганизмы вызывают угнетение синтеза белка и его повышенное использование в поддерживающем обмене при голодании. Наименее выражено влияние на обмен белка картофельной палочки и стафилококка – 1-12% при различных уровнях заражения корма, наиболее – протей и грибов (15-49%). Под влиянием бактерий у молоди стерляди замедляется синтез липидов и снижается их участие в поддерживающем обмене – в минимальной степени под действием картофельной палочки (4-16% при различных уровнях заражения), в максимальной – стафилококка и протей (до 75%); дрожжеподобные и плесневые грибы в 1,5-2 раза усиливают накопление неполноценных липидов, использование которых в поддерживающем обмене затруднено. Обнаруженные у молоди стерляди нарушения водного и

липидного обменов, торможение синтеза белка аналогичны проявлениям воздействия бактериальных токсинов на теплокровных животных и человека (Вертиев, 1996). Это связано с универсальностью бактериальных токсинов, которые эволюционно, по строению и механизму действия, сходны с ферментами и гормонами животных и способны использовать соответствующие субстраты в организме хозяина.

Следует подчеркнуть, что выявленные у молоди стерляди морфологические, функциональные и обменные нарушения, вызываемые заражением комбикормов микроорганизмами, имеют отдаленные последствия, которые в неблагоприятных условиях (например, при зимнем голодании) проявляются в снижении жизнеспособности. По степени отрицательного воздействия на жизнеспособность молоди стерляди, исследованные микроорганизмы можно расположить в следующем порядке (суммарная выживаемость за период питания и голодания, %): 83 (контроль) > 78 (картофельная палочка и цитробактер) > 74 (стафилококк) > 66 (кишечная палочка) > 40 (протей) > 39 (дрожжеподобные грибы).

Учитывая, что снижение защитных функций, нарушения метаболизма, снижение темпа роста и жизнеспособности у молоди стерляди проявляются при меньшей микробной обсемененности корма ( $10^4$  КОЕ/г), чем предусмотрено действующими нормативами безопасности –  $5 \times 10^4$  для грибов и  $5 \times 10^5$  КОЕ/г для общей микробной обсемененности (ГОСТ Р 51899-2002), можно говорить о целесообразности их коррекции. Речь идет о расширении перечня контролируемых показателей, в частности присутствия в комбикормах для осетровых рыб исследованных микроорганизмов на уровне, не превышающем следующие значения (КОЕ/г): кишечная палочка (*E. coli*) –  $1 \times 10^5$ , протей (*Pr. vulgaris*) –  $1 \times 10^4$ , цитробактер (*Citrobacter* sp.) –  $5 \times 10^5$ , стафилококк эпидермальный (*St. epidermidis*) –  $5 \times 10^4$ , картофельная палочка (*Bac. mesentericus*) –  $5 \times 10^5$ , дрожжеподобные грибы (*Candida albicans*) –  $1 \times 10^4$ .

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Подводя итог комплексу проведенных исследований и обобщению ранее полученных результатов, можно говорить о том, что микробная контаминация кормов, являясь постоянно действующим фактором культивирования рыб представляет для них серьезную опасность. При сохранении выживаемости рыб в пределах технологических нормативов и незначительном торможении их роста, происходят, как правило, необратимые структурные и функциональные изменения органов, выполняющих барьерную функцию по отношению к чужеродным агентам, а также осуществляющих детоксикацию и удаление ядов и являющихся важнейшими элементами иммунной системы (печень, почки, кишечник). На метаболическом уровне хроническая интоксикация, вызываемая микробным заражением кормов, приводит к разнонаправленным нарушениям водного и

липидного обмена, угнетению синтеза белка и повышенному расходу энергии на нейтрализацию токсического действия; а в поддерживающем обмене – к нарушениям соотношения в утилизации белков и липидов, резкому снижению жизнеспособности рыб, особенно в неблагоприятных условиях.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

*Абрамова Ж.И., Картавцева Н.Е., Николаева Н.А.* Исследование процессов окисления липидов в искусственных кормах рыб // Сб. науч. тр. ГОСНИОРХ Л.: ГОСНИОРХ, 1981. Вып. 176. С. 103-112.

*Бурлаченко И.В.* Зависимость качества рыбных кормов от степени их загрязнения *Escherichia coli* // Мат. Междунар. симп. «Холодноводная аквакультура: старт в XXI век». Санкт-Петербург 8-13 сентября 2003. С. 75-76.

*Бурлаченко И.В.* Обсемененность рыбных комбикормов микроорганизмами и ее изменения при хранении и экспериментальном заражении кормов // Мат. III Междунар. научно-практ. конф. «Аквакультура осетровых рыб: достижения и перспективы развития». Астрахань, 2004. С. 235-238

*Бурлаченко И.В.* Влияние заражения комбикормов стафилококками (*Staphylococcus epidermidis*) на рост, состояние внутренних органов и биохимический статус молоди осетровых // Мат. IV Междунар. научно-практ. конф. «Аквакультура осетровых рыб: достижения и перспективы развития». Астрахань, 2006. М.: ВНИРО, 2006. С. 227-231.

*Бурлаченко И.В.* Актуальные вопросы безопасности комбикормов в аквакультуре. М.: ВНИРО, 2007 (в печати).

*Бурлаченко И.В., Аветисов К.Б., Юхименко Л.Н., Бычкова Л.И.* Бактериальная обсемененность комбикормов и ее влияние на молодь стерляди // Тр. ВНИРО. Т. 141. М.: ВНИРО, 2002. С. 194-208.

*Бурлаченко И.В., Аветисов К.Б., Юхименко Л.Н., Бычкова Л.И.* Влияние бактериальной обсемененности кормов на физиологическое состояние молоди рыб // Мат. Междунар. научно-практ. конф. «Аквакультура начала XXI века». М.: ВНИРО, 2002. С. 245-253.

*Бычкова Л.И., Юхименко Л.Н., Можарова А.И.* Протейная инфекция у форели при выращивании в морских садках // Рыбное хозяйство. Информ. пакет «Болезни рыб». Сер. Аквакультура. 1995. Вып. 2. С. 7-10.

*Вертнев Ю.В.* Бактериальные токсины: биологическая сущность и происхождение // Микробиология. 1996. №3. С. 43-46.

*Войнова Н.В.* Кандидамикоз и смешанная инфекция, вызванная грибами р. *Candida* и бактериями р. *Bacillus*, карповых рыб в рыбоводных хозяйствах Ростовской области. Автореф. дисс. канд. биол. наук. М.: ВИЭВ, 1991. 25 с.

*Галаш В.Т.* Токсико-биологическое действие трихотеценовых микотоксинов на карпа и предельно допустимая концентрация Т-2 токсина в карповых комбикормах. Автореф. дисс. канд. биол. наук. М.: ВНИИПРХ, 1988. 24 с.

*Гамыгин Е.А.* Корма и кормление рыбы // Обзорная информация ЦНИИТЭИРХ. 1987. Вып. 1. 82 с.

*Гамыгин Е.А., Лысенко В.Я., Скляр В.Я., Турецкий В.И.* Комбикорма для рыб, производство и методы кормления. М.: Агропромиздат, 1989. 168 с.

*Гамыгин Е.А., Пономарев С.В., Канидьев А.Н., Щербина М.А.* Методические указания по кормлению рыб новыми комбикормами, выпускаемыми предприятиями Минрыбхоза СССР. М.: ВНИИПРХ, 1990. 45 с.

*Гамыгин Е.А., Щербина М.А., Передня А.А.* Итоги работ по созданию новых кормов для ценных объектов аквакультуры // Вестник АГТУ. Астрахань: АГТУ, 2004. №2(21). С. 55-60.

*Головина Н.А.* Микозы / Ихтиопатология. Под ред. Н.А. Головиной, О.Н. Бауэра. М.: Мир, 2003. 448 с.

*ГОСТ Р 51899-2002* Комбикорма гранулированные. Общие технические условия. Госстандарт России. М., 2002. 8 с.

*Душкина Л.А.* Новое научное и рыбохозяйственное направление – марикультура. Сб. Биологические основы марикультуры. М.: ВНИРО, 1998. С. 7-29.

*Евдокимова Е.Б.* Основы общей патологии / Ихтиопатология. Под ред. Н.А. Головиной, О.Н. Бауэра. М.: Мир, 2003. 448 с.

*Жезмер В.Ю., Белякова Н.В., Заливака Л.В.* Энтеробактерии в установках с замкнутым циклом водообеспечения // Сб. науч. тр. Индустриальные методы рыбоводства в замкнутых системах. М.: ВНИИПРХ, 1988. Вып. 55. С. 84-88

*Жезмер В.Ю., Ляшенко Е.В.* Санитарно-бактериологическое качество комбикормов, используемых при выращивании рыбы // Сб. науч. тр. ВНИИПРХ. Индустриальное рыбоводство в замкнутых системах. М.: ВНИИПРХ, 1991. Вып. 64. С. 19-24.

*Журавель А.А., Кадыков Б.И., Мамин А.И., Косых В.П.* Патологическая физиология сельскохозяйственных животных. М.: Колос, 1968. 432 с.

*Карпевич А.Ф.* Потенциальные свойства гидробионтов как резерв повышения эффективности марикультуры. Сб. Биологические основы аквакультуры в морях европейской части СССР. М.: Наука, 1985. С. 17-33

*Квасников Е.И., Нагорная С.С., Аристова М.В.* Количественный и видовой состав дрожжей в организме карпа и форели, выращиваемых в сбросных водах Киевской ТЭЦ // Микробиологический журнал. 1981. Т. 43. №6. С. 709-712.

*Коляков Я.Е.* Ветеринарная микробиология. М.: Изд.с./х. литературы, 1952. 487 с.

*Кондратьева И.А., Киташева А.А.* Функционирование и регуляция иммунной системы рыб // Вестник Московского ун-та. Сер. Сравнительная иммунология. 2002. №3. С. 97-101.

*Кузьмина В.В.* Защитная функция пищеварительного тракта рыб // Вопросы ихтиологии. 1995. Т. 35. №1. С. 86-93.

*Кузьмина В.В.* Физиолого-биохимические основы экзотрофии рыб. М.: Наука, 2005. 300 с.

*Ларцева Л.В.* Рыбы и гидробионты – переносчики возбудителей инфекционных болезней человека. Астрахань: КаспНИРХ, 2003. 99 с.

*Лукьяненко В.И.* Иммунология рыб. М.: Легкая и пищевая промышленность, 1971. 364 с.

*Лукьяненко В.И.* Иммунобиология рыб. Врожденный иммунитет. М.: Агропромиздат, 1989. 271 с.

*Мусселиус В.А., Ванятинский В.Ф., Вихман А.А. и др.* Лабораторный практикум по болезням рыб. М.: Легкая и пищевая промышленность, 1983. 296 с.

*Остроумова И.Н.* Биологические основы кормления рыб. СПб.: ГосНИОРХ, 2001. 372 с.

*Соколов В.В.* Ветеринарно-санитарное состояние сырья, комбикормов, комбикормовых предприятий и разработка мероприятий по его улучшению // Автореф. дисс. докт. вет. наук. М., 2002. 50 с.

*Тихонова Л.С., Войнова Н.А., Качан С.Н. и др.* Влияние дрожжеподобных грибов на организм рыб // Ветеринария. 1987. №10. С. 31-32.

*Турецкий В.И., Ильина И.Д., Яржомбек А.А.* Об использовании продуктов микробиосинтеза в кормах для карпа // Экологическая физиология и биохимия рыб. Тез. докл. Т. 3. Ярославль, 1989. С. 184-186.

*Тутельян В.А.* Вредные вещества пищевых продуктов и степень их опасности для здоровья человека. В кн.: Проблемы обеспечения безопасности пищевых продуктов. Продуценты микотоксинов и микотоксикозы. М.: Центр международных проектов ГКНТ, 1985а. Т. 1. С. 23-104.

*Уголев А.М.* Эволюция пищеварения и принципы эволюции функций. Л.: Наука, 1985. 544 с.

*Уголев А.М.* Теория адекватного питания и трофология. СПб.: Наука, 1991. 272 с.

*Уголев А.М., Кузьмина В.В.* Пищеварительные процессы и адаптации у рыб. СПб.: Гидрометеоздат, 1993. 238 с.

*Чернышев Н.И., Панин И.Г.* Компоненты комбикормов. Воронеж: ВНИИКП, 2000. 122 с.

*Шабалина А.А.* Оценка качества жира кормов форели при длительном хранении // Изв. ГосНИОРХ. 1974. Т. 97. С. 67-73.

*Шатерников В.А.* Актуальные проблемы науки о питании. В кн.: Проблемы обеспечения безопасности пищевых продуктов. Продуценты микотоксинов и микотоксикозы. М.: Центр международных проектов ГКНТ, 1985. Т. 1. С. 64-82.

*Щербина А.К.* Болезни рыб и методы борьбы с ними. Киев: Изд-во Украинской Академии с/х наук, 1960. 334 с.

*Щербина М.А.* Методические указания по физиологической оценке питательности кормов для рыб. М.: ВАСХНИЛ, 1983. 83 с.

*Щербина М.А.* Влияние качественных различий в питании и температуры среды на пластический обмен у рыб // Сб. научн. тр. «Физиология основных объектов рыбоводства». М.: ВНИИПРХ, 1984. Вып. 42. С. 3-25.

*Щербина М.А., Абросимова Н.А., Сергеева Н.Т.* Искусственные корма и технология кормления основных объектов рыбоводства. Рекомендации / Ростов-н/Д: АЗНИИРХ, 1985. 48 с.

*Щербина М.А., Гамыгин Е.А.* Кормление рыб в пресноводной аквакультуре. М.: ВНИРО, 2006. 364 с.

*Liston J.* Microorganisms as a cause of economic loss to the seafood industry. Oceans' 88. Proc; Baltimor. Oct.31. 1988. №1. Pp. 52-55.

*Schaperclaus W.* Fischkrankheiten. Teil I. Berlin: Academie Verlag, 1979. S. 3-37.

## **ON THE DANGER OF CONTAMINATION OF MIXED FEEDS USED IN AQUACULTURE BY MICROORGANISMS**

© 2007 y. **I.V. Burlatchenko**

*Russian Federal Research Institute of Fisheries and Oceanography,  
Moscow*

The reaction of sterlets on the contamination of feeds by six species of microorganisms has been investigated. The danger of microbe contamination is bound up with its hidden character. Although manifestations are lacking, structural and functional abnormalities and lesions of organs (such as liver, kidneys and intestines), which responsible on detoxication and removal of poisoning substances, were caused by microbial contamination. In addition contamination leads to metabolic disturbances and accompanied by young fish's death under adverse conditions. The reaction of fish's organisms on the microorganisms' metabolic substances is similar that of homoiothermal animals.